

بررسی میزان شیوع برخی از عوامل مولد اسهال با تأکید بر انگل کریپتوسپوریدیوم در کودکان مراجعه کننده به بیمارستان مرکز طبی کودکان تهران، ۱۳۸۲-۱۳۸۱

چکیده

زمینه و هدف: در حال حاضر یکی از مشکلات کشورهای در حال توسعه، بیماری‌های کودکان و مرگ و میر ناشی از آنهاست؛ در این میان، اسهال نقش خاصی را ایفا می‌کند. با توجه به اهمیت کریپتوسپوریدیوم در ایجاد اسهال‌های طولانی مدت و مرگبار، بویژه در افراد با نقص ایمنی و نیز کودکان با سوءتغذیه و همچنین عدم توجه در تشخیص این انگل در اغلب آزمایشگاه‌ها، در این مطالعه سعی شد میزان شیوع عوامل مولد اسهال و همچنین جایگاه انگل کریپتوسپوریدیوم در بین آنها و ارتباط آن با برخی فاکتورهای خطر بررسی شود، بدین ترتیب مطالعه اخیر، طراحی و انجام گردید.

روش بررسی: در این مطالعه مقطعی، طی یکسال (از تیرماه ۱۳۸۱ لغایت تیر ۱۳۸۲) از ۴۲۰ کودک مبتلا به اسهال زیر ۱۰ سال مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان تهران، نمونه‌های مدفوع جمع‌آوری شد و با مشاهده لام مستقیم، فرمل اتر و رنگ‌آمیزی اسیدفاست اصلاح شده، بررسی‌های لازم جهت شناسایی عوامل انگلی بعمل آمد. همچنین به منظور جداسازی باکتری‌های مولد اسهال، محیط‌های کشت افتراقی و آنتی‌سرم‌های پلی والان استاندارد استفاده شدند. داده‌ها با استفاده از آمار توصیفی و تحلیلی (آزمون‌های مجذور کای، تی و دقیق‌فیشتر) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: یافته‌های این مطالعه نشان داد که پس از باکتری‌ها، انگل‌ها عامل مهم اسهال در کودکان می‌باشند و کریپتوسپوریدیوم با شیوع ۲/۴٪ پس از ژiardia (۲/۹٪)، دومین عامل انگلی جدا شده بود. بررسی‌های آماری، ارتباط معنی‌داری بین وجود کریپتوسپوریدیوم با متغیرهای وجود موکوس در مدفوع ($p=0/003$)، نقص ایمنی ($p=0/01$) و سن ($p=0/017$) را نشان داد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه بر بکارگیری روش‌های تشخیصی مناسب جهت شناسایی کریپتوسپوریدیوم در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، تاکید نموده و نیز متداول نمودن این روش‌ها را برای نمونه‌های مدفوع اسهالی موکوسی و آبی، بویژه در افراد با نقص ایمنی توصیه می‌نماید.

کلیدواژه‌ها: ۱- کریپتوسپوریدیوم ۲- اسهال ۳- کودکان ۴- باکتری

تاریخ دریافت: ۸۴/۱۲/۲، تاریخ پذیرش: ۸۵/۵/۲۳

مقدمه

اسهال از جمله بیماری‌هایی است که در تمام دنیا شایع بوده و یکی از معضلات بهداشتی اکثر جوامع می‌باشد که همه ساله موجب زیانهای جبران‌ناپذیر و تلفات انسانی

می‌گردد. بر اساس آمار وزارت بهداشت، موارد مرگ و میر ناشی از اسهال در کودکان زیر ۵ سال کشور ما در سال ۱۳۷۰، ۱۰/۰۰۰ مورد و در سال ۱۳۷۵، ۲۰۰۰ مورد گزارش

(I) کارشناس ارشد انگل‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(II) استاد و مدیر گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، تقاطع بزرگراه شهید همت و چمران، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران (* مؤلف مسؤول).

(III) دانشیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(IV) دانشیار و متخصص آسیب‌شناسی و ریاست آزمایشگاه بیمارستان مرکز طبی کودکان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی تهران، تهران، ایران.

(V) کارشناس ارشد میکروپ‌شناسی، بیمارستان امام‌خمینی، خیابان باقرخان، تهران، ایران.

(VI) دانشجوی دکتری انگل‌شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

که این امر سبب ناشناخته ماندن این انگل، طولانی و مزمن شدن بیماری و عوارض ناشی از آن می‌گردد. با توجه به اهمیت کریپتوسپوریديوم در ایجاد اسهال‌های طولانی مدت و مرگبار، بویژه در کودکان با سوءتغذیه و نقص ایمنی در سراسر جهان از جمله ایران، سعی شد تا شیوع برخی از عوامل مولد اسهال و جایگاه انگل کریپتوسپوریديوم در بین آنها و ارتباط آن با برخی از متغیرهای بهداشتی، بررسی و تعیین شود.

روش بررسی

این مطالعه مقطعی (cross-sectional)، با هدف تعیین موقعیت کریپتوسپوریديوم در بین دیگر عوامل انگلی و باکتریایی مولد اسهال در کودکان اسهالی زیر ۱۰ سال، انجام شد. طی یک سال از تیرماه ۱۳۸۱ لغایت خردادماه ۱۳۸۲، تمامی کودکان اسهالی مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان تهران که پزشک درمانگاه مرکز برای آنان درخواست آزمایش مدفوع از نظر انگل‌شناسی و کشت میکروب‌شناسی داده بود، مورد پذیرش و بررسی قرار گرفتند.

غربالگری افراد مورد مطالعه از نظر متغیر نقص سیستم ایمنی دارای تاییدیه متخصصین گروه آسم و آلرژی و ایمونولوژی «مرکز طبی کودکان تهران» بوده است.

در ابتدا اطلاعات مربوط به سن، جنس، نوع آب مصرفی، تماس با حیوانات، سابقه مسافرت اخیر و نیز مصرف داروهای سرکوب کننده سیستم ایمنی و شیمی درمانی در پرسشنامه‌ای که به همین منظور تهیه شده بود، ثبت گردید. سپس از هر بیمار یک نمونه مدفوع با دستورالعمل رایج در آزمایشگاه انگل‌شناسی اخذ گردید.

پس از بررسی‌های ماکروسکوپی، به منظور مشاهده میکروسکوپی، از هر نمونه دو گسترش مستقیم یکی با سرم فیزیولوژی و دیگری با لوگل تهیه شد و از نظر تک‌یاخته‌های انگلی، تخم و یا لارو کرمها بررسی گردید. در مرحله بعد، برای هر نمونه مدفوع روش فرمل اتر بکار گرفته شد و از رسوب حاصله، دو گسترش تهیه گردید، گسترش اول به روش مشاهده مستقیم با میکروسکوپ، از نظر وجود عوامل

شده است.^(۱) براساس گزارش‌های موجود، میزان مرگ و میر کودکان به علت اسهال در آسیا، آفریقا و آمریکای لاتین، ۶-۴ میلیون مورد در سال (۱۲۶۰۰ مورد مرگ و میر در روز) می‌باشد.^(۲ و ۳)

عوامل گوناگونی از قبیل تراکم جمعیت، فقر امکانات بهداشتی، اطلاع‌رسانی اندک، سوءتغذیه و شرایط خاص اجتماعی و رفتاری در افزایش میزان شیوع اسهال در کشورهای در حال توسعه دخالت دارند.

عوامل مولد اسهال در کودکان شامل ویروس‌ها، باکتری‌ها، انگل‌ها و قارچ‌ها می‌باشند. در بین ویروس‌ها، روتاویروس‌ها، مهم‌ترین عامل اسهال در اطفال می‌باشند.^(۴) از میان باکتری‌ها، شیگلا، سالمونلا، اشرشیاکلی آنتروپاتوژن، آئروموناس، ویبریوکلرا، کمپیلوباکتر و یرسینیا، از جمله عوامل مهم مولد اسهال در کودکان شناخته شده‌اند. ژiardیا، کریپتوسپوریديوم، آنتامباهیستولیتیکا و بلاستوسیسیتیس هومینیس، از مهم‌ترین عوامل شایع انگلی محسوب می‌شوند. همچنین کاندیدا آلبیکنس به عنوان مهم‌ترین عامل قارچی ایجاد کننده اسهال مطرح می‌باشد.^(۵)

کریپتوسپوریديوم به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل مولد اسهال در کودکان کشورهای جهان سوم شناخته شده است. میزان شیوع این پاتوژن انگلی، کمتر از ۱٪ تا بیش از ۳۰٪ از سراسر دنیا گزارش شده است.^(۶)

عوارض و مرگ و میر ناشی از اسهال‌های کریپتوسپوریديایی در کودکان با سوءتغذیه و افراد با نقص سیستم ایمنی و همجنس‌بازان مذکر، قابل تعمق است، بویژه آنکه در حال حاضر هیچ‌گونه درمان مؤثر و قطعی برای کریپتوسپوریديوزیس شناخته نشده است. همچنین به دلیل مقاومت اوویسیت‌های این تک‌یاخته به مواد ضدعفونی کننده، از بین بردن آنها نیز آسان نمی‌باشد.^(۷)

در کشور ما، چندین مطالعه در خصوص میزان شیوع این تک‌یاخته در گروه‌های مختلف از جمله افراد با نقص سیستم ایمنی، مبتلایان به اسهال و افراد بدون علامت، انجام شده است. اما متأسفانه در زمینه تشخیص این انگل، در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، اقدام جدی صورت نمی‌گیرد

یافته‌ها

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ۷۴ مورد (۱۷/۷٪) از نمونه‌ها، دارای عامل پاتوژن باکتریایی و ۳۱ مورد (۷/۳٪)، دارای عامل پاتوژن انگلی بودند و از ۹ مورد (۲/۱٪)، قارچ کاندیدا آلبیکنس جدا شد. همچنین مشخص گردید انگل‌ها، پس از باکتری‌ها در درجه دوم اهمیت از نظر ایجاد اسهال در جمعیت مورد مطالعه می‌باشند. از بین باکتری‌های پاتوژن جدا شده، شیگلا و آئروموناس به ترتیب با شیوع ۷/۹٪ و ۳/۶٪، بیش‌ترین سهم را به خود اختصاص دادند و از بین انگل‌های جدا شده، کریپتوسپوریدیوم با ۱۰ مورد (۲/۴٪)، پس از ژیا ردیا با ۱۲ مورد (۲/۹٪)، دومین انگل مهم مسبب اسهال در این کودکان بود (جدول شماره ۱). در هیچ یک از موارد، آلودگی همزمان با دو یا چند عامل پاتوژن مشاهده نشد. همچنین در کودکان گروه سنی ۶ ماه و کمتر، ۶۵ مورد (۱۵/۵٪) فاقد آلودگی انگلی بودند.

جدول شماره ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی عوامل مولد اسهال در ۴۲۰ کودک مبتلا به اسهال مراجعه کننده به مرکز طبی کودکان، سال ۸۲-۱۳۸۱

عامل پاتوژن	تعداد	درصد	C.I. ۹۵٪ اطمینان
شیگلا	۳۳	۷/۹	۷/۹ ± ۲/۶
آئروموناس	۱۵	۳/۶	۳/۶ ± ۱/۸
سالمونلا	۱۴	۳/۳	۳/۳ ± ۱/۷
اشرشیاکلی انتروپاتوژن	۱۲	۲/۹	۲/۹ ± ۱/۶
ژیا ردیا لامبلیا	۱۲	۲/۹	۲/۹ ± ۱/۶
کریپتوسپوریدیوم	۱۰	۲/۴	۲/۴ ± ۱/۵
کاندیدا آلبیکنس	۹	۲/۱	۲/۱ ± ۱/۴
بلاستوسیسیتیس هومینیس	۶	۱/۴	۱/۴ ± ۱/۱
هیمونولپیس نانا	۲	۰/۴	۰/۴ ± ۰/۶
آنتامباهیستولیتیکا/دیسپار	۱	۰/۲	۰/۲ ± ۰/۴

در این بررسی از ۴۲۰ کودک مورد مطالعه، ۲۳۸ نفر (۵۶/۴٪)، مذکر و ۱۸۲ نفر (۴۳/۶٪)، مونث بودند. اگر چه در جنس مذکر در ۱/۷٪ موارد، کریپتوسپوریدیوم مشاهده شد و این نسبت در جنس مونث ۳/۳٪ بود، اما این تفاوت از نظر آماری، معنی‌دار نمی‌باشد ($P=0/34$, Fisher exact test).

انگلی روده‌ای بررسی شد و گسترش دوم با روش ذیل‌نلسون اصلاح شده (Henrikson method)، رنگ‌آمیزی گردید. در این روش گسترش‌ها پس از خشک‌شدن در مجاورت هوا، به مدت ۵ دقیقه با متانول خالص فیکس شده و پس از خشک شدن، گسترش‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در محلول رنگ کربول فوشین قرار داده و سپس با آب شسته می‌شدند و آنگاه به مدت ۲۰ ثانیه، همراه با حرکت دادن، در محلول اسیدسولفوریک ۲٪ که به عنوان رنگ‌بر استفاده می‌شود، قرار داده می‌شدند. سپس گسترش‌ها با آب شستشو داده و به مدت ۵ دقیقه در رنگ مالاشیت‌گرین گذارده و در مرحله آخر با آب شستشو و در مجاورت هوا قرار داده می‌شدند تا خشک شوند. این گسترش‌ها با بزرگنمایی $\times 100$ میکروسکوپ از نظر وجود عوامل اسیدفاست (کوکسیدیاهای روده‌ای) بویژه اووسیست‌های کریپتوسپوریدیوم مورد مطالعه و بررسی دقیق قرار می‌گرفتند.

علاوه بر بررسی‌های انگل‌شناسی فوق، هر نمونه مدفوع تازه، بر روی محیط‌های سالمونلا شیگلا آگار (SS آگار)، مک‌کانکی آگار و بلاد آگار آمپی‌سیلین‌دار، کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جهت تشخیص نهایی باکتری‌های پاتوژن روده‌ای سالمونلا، شیگلا، اشرشیاکلی آنتروپاتوژن و آئروموناس، از تست‌های بیوشیمیایی (اکسیداز، سیترات، حرکت، اوره، تولید گاز، تولید SH_2 ، تخمیر قندهایی چون گلوکز، لاکتوز و مانیتول) و آنتی سرم‌های پلی‌والان اختصاصی آنها استفاده گردید.

بر روی اطلاعات استخراج شده از پرسشنامه به همراه نتایج بدست آمده از آزمایش‌ها، بررسی آماری با استفاده از نرم‌افزار spss for windows انجام شد. به منظور محاسبه شیوع، از آمار توصیفی مانند جداول فراوانی مطلق و نسبی و به منظور استنباط تحلیلی داده‌ها و برحسب متغیر، از تست‌های مختلف آماری همچون تست مجذور کای، آزمون t ، تست دقیق فیشر و حدود اطمینان (Confidence Interval) استفاده شد. P کمتر از ۰/۰۵، از نظر آماری، معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج این بررسی نشان داد که ۲/۶٪ کودکانی که از آب لوله‌کشی شهری استفاده می‌کردند و ۱/۹٪ کودکانی که از آب غیر لوله‌کشی شهری استفاده می‌کردند، به انگل کریپتوسپوریدیوم مبتلا بودند که اختلاف معنی‌داری از نظر آماری بین این دو گروه مشاهده نشد ($P=1/00$, Fisher exact test).

تعداد ۶۲ نفر از کودکان مورد مطالعه دارای تماس نزدیک با حیوانات بودند، در حالی که ۳۵۸ نفر، فاقد تماس با حیوانات گزارش شدند. در ۳/۲٪ کودکانی که با حیوانات تماس نزدیک داشتند، کریپتوسپوریدیوم گزارش شد و فقط ۲/۲٪ کودکان فاقد تماس نزدیک با حیوانات، به این تک‌یاخته مبتلا بودند که این تفاوت از نظر آماری، معنی‌دار نبود ($P=0/65$, Fisher exact test).

تعداد ۱۳۹ نفر از کودکان مورد بررسی، دارای سابقه مسافرت اخیر بودند که ۲/۹٪ این گروه، آلوده به کریپتوسپوریدیوم بودند، در حالی که از ۲۸۱ نفر بدون سابقه مسافرت، فقط در ۲/۱٪ آنها کریپتوسپوریدیوم گزارش شد که اختلاف معنی‌داری از نظر آماری بین این دو گروه مشاهده نشد ($P=0/74$, Fisher exact test) (جدول شماره ۲).

در بررسی نمونه‌ها از نظر وجود موکوس در مدفوع، در ۲/۸٪ از نمونه‌های حاوی موکوس، کریپتوسپوریدیوم مشاهده شد، این در حالی است که ۱/۴٪ از نمونه‌های بدون موکوس، حاوی انگل کریپتوسپوریدیوم بودند که این تفاوت از نظر آماری، معنی‌دار می‌باشد ($P=0/003$, Fisher exact test).

بر اساس اطلاعات استخراج شده از پرسشنامه‌ها، ۹ نفر از جمعیت مورد بررسی دارای نقص ایمنی بودند که ۲ نفر از آنها (۲۲/۲٪) به کریپتوسپوریدیوزیس مبتلا بودند، در حالی که فقط در ۲٪ کودکانی که نقص ایمنی نداشتند، کریپتوسپوریدیوم مشاهده شد. بررسی‌های آماری، اختلاف معنی‌داری را بین این دو گروه نشان دادند ($P=0/01$, Fisher exact test) (جدول شماره ۳).

در بررسی گروه‌های سنی کودکان مورد مطالعه، با توجه به اینکه در کریپتوسپوریدیوم مثبت‌ها، میانگین سن، ۵۳/۱ ماه (انحراف معیار ۳۸/۶۳) و در مورد کریپتوسپوریدیوم منفی‌ها، میانگین سن، ۳۰/۶۶ ماه (انحراف معیار ۲۸/۹۳) بود، بررسی‌های آماری (آزمون t)، اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه نشان دادند ($P=0/017$, T test) (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی ۴۲۰ کودک مورد بررسی برحسب وجود کریپتوسپوریدیوم به تفکیک متغیرهای جنس،

آب مصرفی، ...						
متغیر	کریپتوسپوریدیوم		مثبت		منفی	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	P-Value
جنس	مذکر	۴	۱/۷	۲۳۳	۹۸/۳	۰/۳۴
	مؤنث	۶	۳/۳	۱۷۷	۹۶/۷	
آب مصرفی	لوله‌کشی شهری	۸	۲/۶	۳۰۵	۹۷/۴	۱/۰۰
	غیرلوله‌کشی شهری	۲	۱/۹	۱۰۵	۹۸/۱	
تماس با حیوانات	دارد	۲	۳/۲	۶۰	۹۶/۸	۰/۶۵
	ندارد	۸	۲/۲	۳۵۰	۹۷/۸	
سابقه مسافرت اخیر	دارد	۴	۲/۹	۱۳۵	۹۷/۱	۰/۷۴
	ندارد	۶	۲/۱	۲۷۵	۹۷/۹	

با توجه به اینکه کلیه متغیرهای فوق، $P \text{ value} > 0/05$ داشتند، ارتباط معنی‌داری بین آنها و کریپتوسپوریدیوزیس بدست نیامد.

جدول شماره ۳- توزیع فراوانی مطلق و نسبی ۴۲۰ کودک مورد بررسی برحسب وجود کریپتوسپوریديوم به تفکیک متغیرهای موکوس در مدفوع و سابقه نقص ایمنی، در مرکز طبی کودکان تهران، ۱۳۸۱-۱۳۸۲

متغیر	کریپتوسپوریديوم		مثبت		منفی		P-Value
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
موکوس	دارد	۸	۲/۸	۲۷۳	۹۷/۲	۰/۰۰۳	
	ندارد	۲	۱/۴	۱۳۷	۹۸/۶		
سابقه نقص ایمنی	دارد	۲	۲۲/۲	۷	۷۷/۸	۰/۰۱	
	ندارد	۸	۲	۴۰۳	۹۸		

جدول شماره ۴- توزیع فراوانی مطلق و نسبی کودکان مورد بررسی برحسب وجود کریپتوسپوریديوم به تفکیک سن در مرکز طبی کودکان تهران، ۱۳۸۱-۱۳۸۲

سن	کریپتوسپوریديوم		مثبت		منفی		جمع
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
کمتر از یک سال	۰	۰	۱۳۸	۱۰۰	۱۳۸	۳۳	
۱-۲ سال	۵	۴/۶	۱۰۴	۹۵/۴	۱۰۹	۲۶	
۳-۵ سال	۲	۱/۸	۱۱۲	۹۸/۲	۱۱۴	۲۷	
۶-۱۰ سال	۳	۵/۱	۵۶	۹۴/۹	۵۹	۱۴	
جمع	۱۰	۱۰۰	۴۱۰	۱۰۰	۴۲۰	۱۰۰	
میانگین (ماه)	۵۳/۱۰		۳۳/۶۶		۳۱/۱۹		
انحراف معیار (ماه)	۳۰/۶۶		۲۸/۹۳		۲۹/۳۴		

t=۲/۴۰, df=۴/۸, Pvalue=۰/۰۱۷

بحث

در کشورهای کمتر توسعه یافته، ابتلا به اسهال عفونی حاد در همه گروه‌های سنی دیده می‌شود و این بیماری یکی از علل مهم مرگ و میر در کودکان و نوزادان در این جوامع می‌باشد، بطوری که سالیانه حدود ۲/۴ تا ۲/۹ میلیون مرگ و میر به علت اسهال گزارش می‌شود.

عوامل مسبب اسهال در کشورهای توسعه یافته و کشورهای در حال توسعه، از الگوی متفاوتی برخوردار هستند، بطوری که در کشورهای توسعه یافته، ویروس‌ها سهم عمده‌ای در ایجاد اسهال‌های کودکان داشته و باکتری‌ها در جایگاه بعدی قرار دارند؛ در این گروه، انگل‌ها سهم بسیار ناچیزی را به خود اختصاص می‌دهند. در مقابل، در کشورهای در حال توسعه، علاوه بر اینکه میزان اسهال در

کودکان از شیوع بالاتری برخوردار است، عوامل بیماری‌زای بیش‌تری، نیز از آنها جداسازی می‌شود. در این گروه نیز ویروس‌ها بیش‌ترین سهم را در بین عوامل مولد اسهال دارند و باکتری‌ها (با میزان شیوع بیش‌تری نسبت به کشورهای توسعه یافته) همچنان در رتبه دوم پس از ویروس‌ها قرار دارند، همچنین انگل‌ها نیز به عنوان سومین عامل مهم اسهال کودکان در کشورهای در حال توسعه معرفی شده‌اند. در بین عوامل ویروسی، روتاویروس‌ها عامل بیش از ۵۰٪ اسهال‌های کودکان معرفی شده‌اند و سایر ویروس‌ها نقش کمتری در ایجاد اسهال دارند.^(۲، ۴)

مقدادی و همکاران همزمان با مطالعه حاضر، در یک بررسی، شیوع روتاویروس را در کودکان مبتلا به اسهال ۲۱٪ گزارش نمودند.^(۸)

در مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۰ توسط قلاوند در مرکز طبی کودکان تهران بر روی کودکان اسهالی انجام شد، ۲۷/۸٪ اسهال‌ها به علت عوامل باکتریایی بودند که در این میان، شیگلا (۱۸/۴٪) و آئروموناس (۴/۵٪)، مهم‌ترین عوامل مولد اسهال بودند.^(۹)

این مطالعه به منظور تعیین موقعیت تک یاخته کریپتوسپوریدیوم در بین سایر عوامل انگلی و باکتریایی مولد اسهال در کودکان مبتلا به اسهال کمتر از ۱۰ سال انجام گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که ۱۷/۷٪ از نمونه‌ها، دارای عامل پاتوژن باکتریایی و ۷/۳٪، دارای عامل پاتوژن انگلی بودند و از ۲/۱٪ نمونه‌ها نیز عوامل قارچی پاتوژن جداسازی گردید. در بین باکتری‌ها، شیگلا (۷/۹٪) و آئروموناس (۳/۶٪)، بیش‌ترین میزان شیوع را به خود اختصاص دادند. در بین عوامل انگلی، کریپتوسپوریدیوم (۲/۴٪)، پس از ژiardia (۲/۹٪) بیش‌ترین شیوع را داشت و بلاستوسیستیس هومینیس (۱/۴٪)، هیمنولپس نانا (۰/۴٪) و آنتامبا هیستولیتیکا/دیسپار (۰/۲٪) نیز جداسازی شدند.

امروزه کریپتوسپوریدیوم به عنوان یکی از عوامل بیماری‌زای روده‌ای مهم مولد اسهال‌های مرگبار بویژه در افراد با نارسایی ایمنی در سطح جهان مطرح می‌باشد. این تک یاخته به عنوان یک عامل اسهال حاد و یا مزمن در تمام گروه‌های بیماران، بویژه کودکان، شناخته شده است.^(۱۰-۱۲) ثابت شده است که این تک یاخته علاوه بر زئونوز بودن و انتقال از حیوان به انسان، توانایی انتقال از انسان به انسان را نیز دارا می‌باشد. افراد ایدزی مبتلا به کریپتوسپوریدیوزیس علامت‌دار ممکن است روزانه ۱/۲ بلیون اووسیست دفع نمایند. با توجه به افزایش موارد نقص ایمنی و مزمن بودن آلودگی به کریپتوسپوریدیوم در این افراد، انتقال از انسان به انسان می‌تواند یکی از راه‌های مهم در سرایت بیماری محسوب شود.

دفع اووسیست به مدت طولانی، دوز پایین عفونت‌زایی، اندازه کوچک اووسیست‌ها و مقاومت آنها به

کسر، از عوامل موثر در اپیدمیولوژی این بیماری می‌باشند.^(۱۳ و ۱۴)

نتایج مطالعه مشابه دیگری در بندرعباس، میزان آلودگی به کریپتوسپوریدیوم در بین کودکان مبتلا به اسهال را ۷٪ نشان داد.^(۱۴) شیوع بیش‌تر آلودگی به این انگل در بندرعباس نسبت به مطالعه حاضر، احتمالاً ناشی از آب و هوای گرم و مرطوب در بندرعباس و مساعد بودن آن برای القاء اووسیست‌ها در محیط و انتقال آن به افراد می‌باشد. در بررسی حاضر ۶ مورد از کریپتوسپوریدیوم‌ها، از جنس مونث و ۴ مورد، از جنس مذکر جدا گردیدند، اما همانند سایر مطالعات انجام شده، تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین این دو گروه مشاهده نگردید ($P=0/34$). در واقع شانس ابتلاء به عفونت با کریپتوسپوریدیوم، در هر دو جنس به یک اندازه می‌باشد.

گرچه برخی مطالعات تفاوت‌هایی را بین جنسهای مذکر و مونث در ابتلا به این انگل گزارش نموده‌اند، اما به نظر می‌رسد که این موقعیت شغلی، بهداشتی و اجتماعی افراد است که در میزان ابتلاء آنان موثر است و نه جنسیت آنها.

از آنجایی که ابتلا به کریپتوسپوریدیوم همانند ژiardia، از راه مدفوعی دهانی می‌باشد، به نظر می‌رسد آب آشامیدنی آلوده در مناطق شهری و تماس با حیواناتی نظیر گاوهای آلوده در مناطق روستایی، از مهم‌ترین راه‌های انتقال آلودگی می‌باشند.^(۱۵)

در بررسی آب مصرفی بیماران، مشخص شد که فقط ۲ نفر از کودکان مبتلا به کریپتوسپوریدیوم از آب غیر لوله‌کشی شهری مصرف می‌کردند، که آنالیز آماری، ارتباط معنی‌داری بین وجود کریپتوسپوریدیوم و آب مصرفی را نشان نداد ($p=1/01$). با توجه به مقاومت و زنده ماندن اووسیست کریپتوسپوریدیوم در آب کلرینه شده، احتمال انتقال آن از راه آب قابل شرب نیز وجود دارد.

از آنجایی که یکی از راه‌های انتقال کریپتوسپوریدیوم،

انتقال زئونوتیک می‌باشد و بررسی‌های متعددی نشان داده‌اند که شیوع انگل در افراد با تماس نزدیک با حیوانات (دامداری‌ها، اصطبل‌ها و ...) به طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها می‌باشد، لذا در این مطالعه وجود ارتباط بین بیماران مبتلا به کریپتوسپوریدیوزیس و تماس آنها با حیوانات، بررسی گردید. نتایج نشان داد که فقط ۲ مورد از ۱۰ مورد آلوده به کریپتوسپوریدیوم، تماس مستقیم یا غیرمستقیم با حیوانات اهلی داشتند که آزمون دقیق فیشر، هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین این دو گروه نشان نداد ($p=0/75$). به نظر می‌رسد که در جوامع شهری به علت عدم تماس با دام‌ها، آب و مواد غذایی، نقش مهم‌تری در انتقال آلودگی دارند. کریپتوسپوریدیوزیس به عنوان یک عامل مهم اسهال مسافرتی نیز مطرح می‌باشد که احتمالاً آب و غذای آلوده و عدم رعایت اصول بهداشتی در سفر و احیاناً افزایش مواجهه با دام‌ها و محیط روستایی می‌توانند از فاکتورهای موثر در ابتلای مسافرتی باشند.^(۷)

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در ۴ مورد (۲/۹٪) از کودکان با سابقه مسافرت اخیر، انگل کریپتوسپوریدیوم وجود داشت، در حالی که در ۲/۱٪ کودکان بدون سابقه مسافرت اخیر، اووسیست انگل مشاهده گردید که آنالیز آماری طبق آزمون دقیق فیشر، اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p=0/74$).

در مطالعه حاضر، بیش‌ترین موارد آلودگی با انگل کریپتوسپوریدیوم در گروه سنی ۱-۵ سال مشاهده شد و بررسی‌های آماری، ارتباط معنی‌داری بین سن و کریپتوسپوریدیوزیس را نشان دادند ($P=0/017$). مطالعات مختلف اپیدمیولوژیکی شرح داده‌اند که کودکان نسبت به عفونت حاد با گونه‌های کریپتوسپوریدیوم حساس‌تر از بالغین هستند. این مسأله احتمالاً به دلیل تکامل نیافتن سیستم ایمنی در کودکان و همچنین بروز عفونت به دنبال رفتارهای غیربهداشتی معمول در کودکان است.^(۱۶ و ۱۷) مطالعات انجام شده در سایر مناطق جهان نشان داده‌اند، که اگر چه کریپتوسپوریدیوم می‌تواند همه

گروه‌های سنی را آلوده کند اما بیش‌ترین موارد گزارش شده در گروه‌های سنی ۹-۱ سال است و میزان آلودگی در کودکان کم سن، بالاتر از کودکان بزرگ‌تر است.^(۱۳ و ۱۸) مطالعه حاضر نیز با نتایج فوق همخوانی دارد. ضمن اینکه هیچ انگلی از گروه سنی کمتر از ۶ ماه جداسازی نگردید، به نظر می‌رسد وجود آنتی‌بادی‌های موجود در شیر مادر و همچنین نوع تغذیه در این گروه سنی و عدم تماس با منابع آلوده، از جمله فاکتورهای مهم کاهش میزان ابتلا در این گروه باشد.

در بررسی نمونه‌های کریپتوسپوریدیوم مثبت، مشخص گردید که بین وجود کریپتوسپوریدیوم و مدفوع موکوسی ارتباط معنی‌داری از نظر آماری وجود دارد ($P=0/003$) که این یافته با نتایج بدست آمده در برخی مطالعات همخوانی دارد، لذا ضروریست تا نمونه‌های مدفوع اسهالی که دارای موکوس هستند، از نظر وجود کریپتوسپوریدیوم مورد توجه قرار گیرند. در مطالعه‌ای که Iqbal و همکاران در پاکستان در سال ۱۹۹۸ انجام دادند ضمن بررسی شیوع کریپتوسپوریدیوزیس در کودکان، نشان دادند که اکثر نمونه‌های مدفوع (بیش از ۶۰٪) حاوی اووسیست کریپتوسپوریدیوم، دارای مقادیر زیادی موکوس بودند و یافته آنان با مطالعات انجام شده در کاستاریکا توسط Urbina و همکاران در سال ۱۹۸۴ نیز همخوانی داشت.^(۱۷)

نتایج مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین کریپتوسپوریدیوزیس و نقص ایمنی در بیماران را بخوبی نشان داد ($p=0/01$). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که وضعیت ایمنی میزبان، عامل اصلی در تعیین شدت و دوره عفونت کریپتوسپوریدیوم می‌باشد.^(۱۹ و ۲۰) در افراد با نقص ایمنی مانند بیماران آلوده به HIV، چنانچه تعداد سلولهای $CD4^+$ آنها به کمتر از ۲۰۰ عدد در میکرولیتر کاهش یابد، بروز و شدت کریپتوسپوریدیوزیس افزایش چشمگیری خواهد داشت.

محدودیت عمده این مطالعه، کم بودن تعداد نمونه‌ها

Goldman L, Ausielo D. Cecil-Text book of medicine. 22nd ed. Philadelphia: Saunders; 2004. p. 1846-7.

6- Casemore DP. Epidemiological aspects of human cryptosporidiosis. *Epidemiol Infect* 1990; 104: 1-28.

7- Fayer R. *Cryptosporidium and Cryptosporidiosis*. 1st ed. Newyork: CRC Press, Baca Raton; 1997. p. 28-31.

۸- مقدادی سروش، مدرس شهرزاد، رهبری‌منش علی‌اکبر، میزان عفونت روتاویروس در کودکان مبتلا به اسهال حاد در بیمارستان بهارلو و مرکز طبی کودکان، موسسه پژوهش و انتشارات ارجمند، خلاصه مقاله پانزدهمین همایش بین‌المللی بیماری‌های کودکان، تهران، سال ۱۳۸۲، صفحه: ۱۷۰.

۹- قلاوند زهره، بررسی میزان شیوع آئروموناس، پلزیوموناس در کودکان مبتلا به اسهال مراجعه کننده به مرکز طبی تهران، پایان نامه کارشناسی ارشد میکروپزشکی، تهران، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی، ۱۳۸۰، صفحه: ۹۳.

10- Kim LS, Hadley WK, Stansell J, Cello JP, Koch J. Declining prevalence of cryptosporidiosis in sanfrancisco. *Clin Infect Dis* 1998; 27(3): 655-6.

11- Enriquez FJ, Avila CR, Santos JJ, Tanaka-Kido J, Vallejo O, Sterling CR. *Cryptosporidium* infection in diagnostic evaluations. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56:254-7.

12- Huang DB, Chappell C, Okhuysen PC. *Cryptosporidiosis* in children. *Semin Pediatr Infect Dis* 2004 Oct; 15(4): 253-9.

13- Michele C Hlavsa, John C Watson, Michael J Beach. *Cryptosporidiosis Surveillance-United States. Surveillance Summaries* 2005 Jan; 54(SS01): 1-8.

14- Hamedi Y, Safa O, Haidari M. *Cryptosporidium* infection in diarrheic children in Southeastern Iran. *Pediatr Infect Dis* 2005 Jun; 24(1): 86-8.

15- Khalakdina A, Vugia DJ, Nadle J, Rothrock GA, Colford JMJr. Is drinking water a risk factor for endemic *Cryptosporidiosis*? A case-control study in the immunocompetent general population of the San Francisco Bay Area. *BMC Public Health* 2003; 3: 11.

16- Esteban JG, Aguirre C, Flores A, Strauss W, Angles R, Mas-coma S. High *Cryptosporidium* prevalences in healthy Aymara children from the northern Bolivian Altiplano. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 58(1): 50-5.

17- Iqbal J, Munir MA, Khan MA. *Cryptosporidium* infection in young children with diarrhea in rawalpindi, Pakistan. *Am J Trop Med Hyg* 1999 May; 60(5): 868-70.

می‌باشد، بنابراین ضروریست در این زمینه، مطالعات مشابه با حجم بیش‌تر نمونه در سایر نقاط کشور انجام شود.

نتیجه‌گیری کلی

توصیه می‌شود که آزمایشگاه‌ها، تمام نمونه های اسهالی موکوسی کودکان و نیز مدفوع بیماران با نقص ایمنی را از نظر این انگل به صورت روتین آزمایش کنند و در دوره‌های بازآموزی به پزشکان و پرسنل آزمایشگاه‌ها، آگاهی لازم در رابطه با انگل‌های بازپدید و نوپدید بویژه کریپتوسپوریديوم داده شود.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند که از زحمات جناب آقای دکتر حسین هوشیار عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی کاشان، جناب آقای دکتر حمید حقانی عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی ایران و پرسنل آزمایشگاه مرکز طبی کودکان که در اجرای این پروژه همکاری داشته‌اند کمال تشکر و قدردانی را داشته باشند.

فهرست منابع

۱- ملک‌افضلی حسین، ارزیابی برنامه‌های بهداشتی کشور در گذشته و حال و پیشنهاد برای برنامه‌های آینده، *مجله پژوهشی حکیم*. ۱۳۷۸؛ (۲): ۶۳-۶۶.

2- Parasha UD, Glass RI. Viral gastroenteritis. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. *Harrison's principles of internal medicine*. 16th ed. Newyork: Mc Graw-Hill, Medical publishing division; 2005. p. 1140-3.

3- Schaechter M, Medoff G. Mechanisms of microbial disease. 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1998. p. 182.

4- Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. Jawetz melnick and adelberg's medical microbiology. 22nd ed. USA: Appleton & Lange; 2001. p. 434.

5- Dupont HL. Introduction of entric infections. In:

18- Simango C, Mutikani S. Cryptosporidiosis in Harare, Zimbabwe. Cent Afr J Med 2004 May-Jun; 50(5-6): 52-4.

19- Petersen C. Cryptosporidiosis in patients infected with the human immunodeficiency virus. Clin Infect Dis 1992; 15: 903-9.

20- Makri A, Modarres R, Parkin R. Cryptosporidiosis susceptibility and risk: A case study. Risk Anal 2004 feb; 24(1): 209-20.

A Survey of the Prevalence of Some Agents Particularly Cryptosporidium to Produce Diarrhea among Children Referred to Tehran Children's Medical Center

^I
B. Nikmanesh, MS ^{II}
***H. Oormazdi, PhD** ^{III}
^{IV} ^V ^{VI}
M.T. Haghi Ashtiani, MD **Z. Ghalevand, MS** **Z. Babaii, MS**

Abstract

Background & Aim: Nowadays one of the problems in developing countries is pediatric diseases and their mortalities. In this respect diarrhea plays a significant role. Cryptosporidium is recognized as an important widespread cause of severe and prolonged diarrhea mainly in immunocompromised or malnourished children, but there is no attention to identifying the parasite. The present study was designed and undertaken to assess the prevalence rate of agents causing diarrhea and determine the role of cryptosporidium and its relationship to some potential risk factors.

Material & Method: In this cross-sectional study carried out during twelve months (from June 2002 to June 2003), stool samples from 420 children under 10 years of age with diarrhea who were admitted to Tehran Children Medical Center were screened. To identify parasites, direct smear, formalin-ether and modified acid fast staining techniques were applied. In addition, in order to distinguish pathogenic bacteria, differential media and polyvalent standard antisera were used. The obtained data was analyzed using descriptive and analytical statistics, i.e. Chi-square, t-test and Fisher exact test.

Results: This study showed that after bacteria, parasites were important causes of diarrhea, and cryptosporidium (2.4%) following giardia (2.9%) was the second parasite isolated in children with diarrhea. Statistical analysis of our results indicated that existence of cryptosporidium was significantly related to the presence of mucus in stool ($P < 0.003$), immune deficiency ($P < 0.01$), and age ($P < 0.017$).

Conclusion: This study emphasized that laboratories include appropriate diagnostic techniques for cryptosporidium in the routine examination of watery or mucoid diarrheal stool specimens, particularly for immunosuppressed patients.

Key Words: 1) Cryptosporidium 2) Diarrhea 3) Children 4) Bacterium

^I) MSc in Parasitology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

^{II}) Professor of Parasitology and Head of the Parasitology and Mycology Department. Faculty of Medicine. Shahid Hemmat Highway. Shahid Chamran Crossroad. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (*Corresponding Author)

^{III}) Associate Professor of Parasitology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

^{IV}) Associate Professor of Pathology. Tehran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

^V) MSPH in Microbiology. Imam Khomeini Hospital. Tehran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

^{VI}) PhD Student of Parasitology. Iran University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.